

研究简报

甲壳类高血糖激素对脊椎动物 肝脏细胞的糖原分解作用*

THE ROLE OF CRUSTACEAN HYPERGLYCEMIC HORMONE IN GLYCOGENOLYSIS OF VERTEBRATE HEPATOCYTES

杨叶金 黄凤钦

(中国水产科学研究院,淡水渔业研究中心,无锡)

Yang Yejin and Huang Fengqin

(Freshwater Fisheries Research Centre, The Chinese Academy of Fisheries Sciences, Wuxi)

关键词 甲壳类高血糖激素,脊椎动物肝脏细胞,糖原分解。

KEYWORDS crustacean hyperglycemic hormone, vertebrate hepatocytes, glycogenolysis

甲壳类高血糖激素(Crustacean hyperglycemic hormone, CHH)于 1944 年在眼柄抽提液发现^[1],当时称致糖尿因子(diabetogenic factor),此后大量报告相继出现^[2]。现已清楚,CHH 由眼柄内^[4]或脑下^[10]的窦腺(sinus gland)所分泌,是一类热敏(heat-labile)、大分子(约 7000MW)肽类激素^[5,7],其靶器官(target organ)为肌肉,系经腺苷环酶而起作用^[8],使肌肉中糖原分解而增加血淋巴中葡萄糖浓度^[6]。为了探讨无脊椎动物的激素对脊椎动物的效应。作者等从克氏螯虾(*Procambarus clarkii*)的眼柄中提出高血糖激素,并把它单独或与肾上腺素、咖啡因组合使用对螯虾腹肌、蛙或鱼的肝脏小块作离体组织培养(in vitro),先后测定培养液中葡萄糖的相对浓度,以判断高血糖激素对脊椎动物肝脏内糖原分解作用,并探讨其作用和途径。

材 料 和 方 法

螯虾购于无锡菜市场;鲫鱼(*Carassius* sp.)来自本中心实验渔场,为 2 龄鱼种。蛙(*Rana* sp.)捕自鱼池边周。

高血糖激素(以下简称激素)的提取:实验前取成虾 2 只,不分雌雄,从基部切下眼柄, van Harrevel 液 1ml, 研磨, 2000rpm 离心 20 分钟, 上清液备用。每 1 实验使用 70 μ l。

* 业师谢麟阁教授指导、阅稿,深致谢意。

收稿年月:1990年7月;1991年1月修改。

培养组织的制备:切取鳌虾腹肌约 $0.1 \times 0.5 \times 1\text{cm}$ 薄片;把鱼肝从肠道周围剥离,剪成约 $0.5 \times 0.2 \times 0.5\text{cm}$ 小块;蛙肝叶切成约 $0.3 \times 0.3 \times 0.5\text{cm}$ 小块。分别置于 van Harrevelde 液及鱼用任氏液的培养皿中待用。

盐酸肾上腺素(无锡第四制药厂),规格 $1\text{mg}/1\text{ml}$,每1实验使用 $40\mu\text{l}$ 。

苯甲酸咖啡因(安纳咖,江苏金坛制药厂),规格 $500\text{mg}/1\text{ml}$,按中华人民共和国药典规定,每 1ml 含咖啡碱 120mg ,稀释 100 倍,故使用浓度为 $1.2\text{mg}/\text{ml}$,每1实验使用 $35\mu\text{l}$ 。

van Harrevelde 液为十足目(Decapoda)最常用之平衡盐液^[14](Basal Salt Solution, BSS),用作高血糖激素的抽提剂及肌肉组织的培养液。

实验时,在培养皿(30ml 之涂釉坩埚)内加 3ml BSS 液,按设计加入试液及组织,摇匀后立即吸取 1ml 测糖,把培养皿放入恒温箱, $26 \pm 2^\circ\text{C}$ 培养 30 分钟,再吸取 1ml 测糖。

测糖,葡萄糖相对浓度测定依 Snell and Snell (1955)法^[15]。培养液 1ml ,铁氰化钾试剂 2ml ,摇匀,水浴煮沸,自来水冷却,加蒸馏水 5ml ,摇匀。分光光度计 420nm 处读取 T 值。

各实验均有专用之定量移液管,避免互相沾染。

结果和讨论

用激素(CHH)分别培养虾肌、鱼和蛙肝的结果表明,鱼肝脏组织和蛙肝脏组织的培养液与虾肌的培养液一样,其葡萄糖浓度均较各自的对照组有显著提高(图1—3),且引起葡萄糖浓度提高的原因不是激素抽提液(图3)或肝组织(图2—3)中原有或残留的葡萄糖所致,而是由激素激活肝细胞后、肝细胞内糖原分解的结果。故可以认为,甲壳类高血糖激素不但能促使其自身肌肉中的糖原分解,还能从脊椎动物——如鱼、蛙的肝脏中分解出葡萄糖来。

Sedlmeir 等(1981)认为 CHH 的作用机制牵涉到环核苷酸(cyclic nucleotides),从而引起细胞内 c-AMP 及 c-GMP 的增高^[12],除 c-GMP 的确切功能尚不清楚^[2]外,c-AMP 作为第二信使,乃受肽类

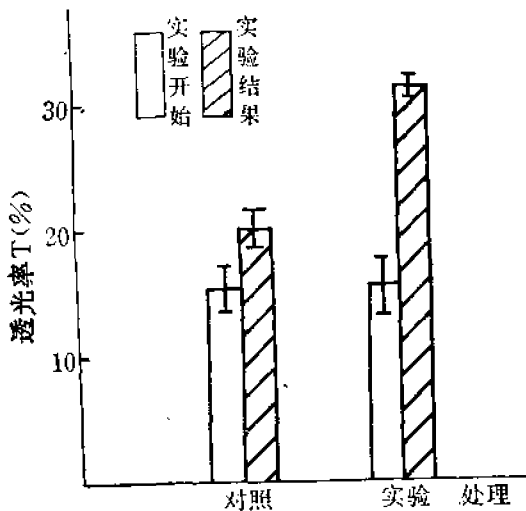


图1 激素对虾肌培养后葡萄糖浓度的影响
Fig. 1 The effects of CHH on glucose concentration in the media from cultured crayfish muscle slices.

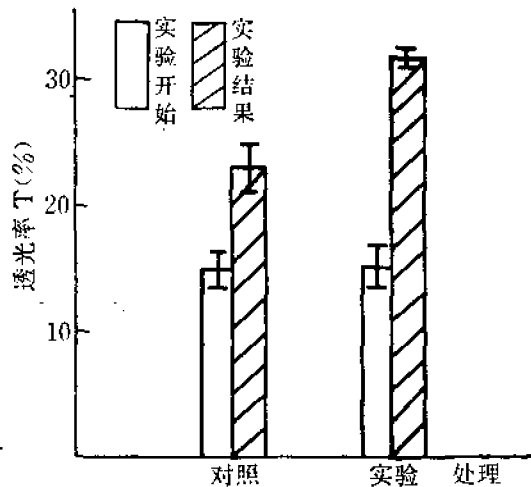


图2 激素对鱼肝培养后葡萄糖浓度的影响
Fig. 2 The effects of CHH on glucose concentration in the media from cultured fish liver slices.

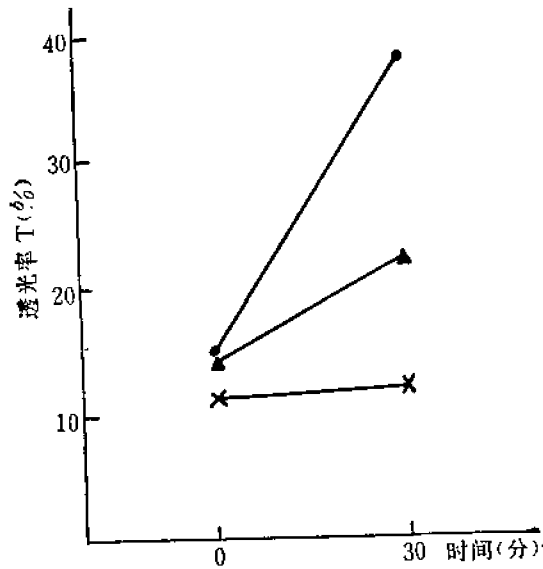


图3 激素对蛙肝培养后葡萄糖浓度的影响

Fig. 3 The effects of CHH on glucose concentration in the media from cultured frog liver slices.

●—●激素+蛙肝, ▲—▲单一蛙肝, ×—×单一激素

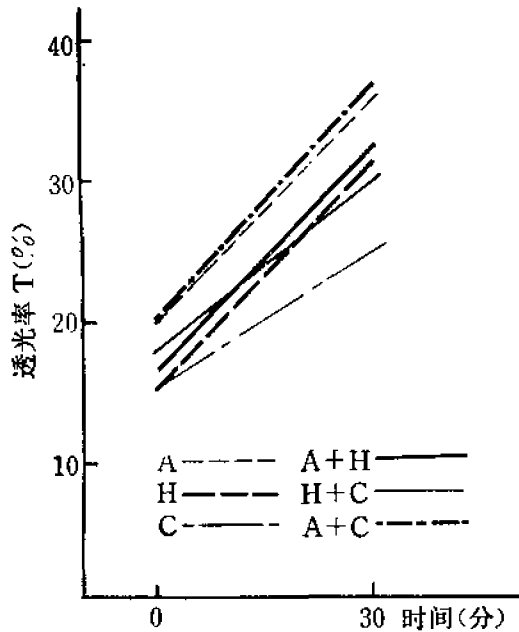


图4 激素、肾上腺素、咖啡因单独或两种组合使用对虾肌糖原分解作用的比较

Fig. 4 The comparison of glycogenolysis in crayfish muscle by using only one or combine with another hormone among caffeine adrenaline and CHH.

A-肾上腺素, C-咖啡因, H-激素

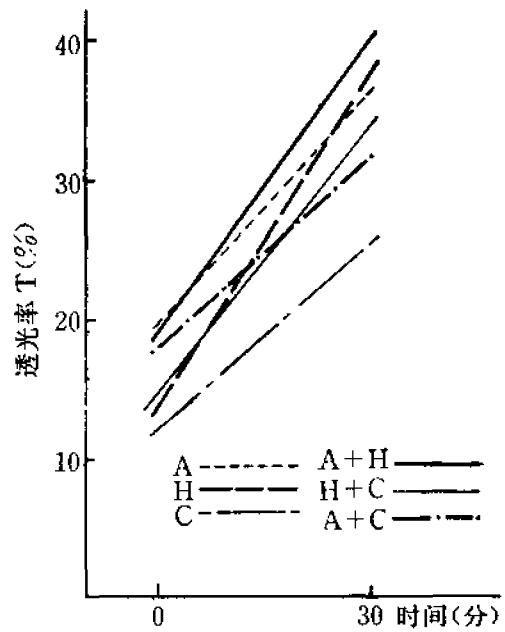


图5 激素、肾上腺素、咖啡因单独或两种组合使用对蛙肝糖原分解作用的比较

Fig. 5 The comparison of glycogenolysis in frog liver by using only one or combine with another hormone among caffeine, adrenaline and CHH.

A-肾上腺素, C-咖啡因, H-激素

及蛋白质激素作用于膜内的腺苷环酶(adenylate cyclase)而形成。

但激活腺苷环酶的物质很多^[3,11],作者等遂作了激素,肾上腺素和咖啡因单独或两两组合实验(图4.5)。肾上腺素是通过腺苷环酶使c-AMP增高而起作用的;咖啡碱亦因抑止c-AMP磷酸二酯酶以提高c-AMP水平而起作用,故二者对糖原分解作用的机制是一致的。

据Wicks(1968)对酪氨酸转氨酶的诱导研究表明,凡作用机制不同的药物,其组合效应必优于单独使用的效应^[15]。但由图4、5所反映的实验却不见如此效果。其中虽有些高低差异。只可认为是组织中糖原贮备高低不同所致。既然CHH是肽类激素,又有肾上腺素与咖啡碱组合实验作为旁证,更可证明甲壳类高血糖激素是通过肝脏细胞膜上的腺苷环酶而起作用的。

参 考 文 献

- [1] Abramowitz, A. A. et al., 1944. The occurrence of a diabetogenic factor in the eyestalk of crustaceans. *Biol. Bull.*, **86**: 1-5.
- [2] De Robertis and De Robertis, 1980. *Cell and Molecular Biology*. 7th ed, Saunders Phil., p 105
- [3] Hoar, W. S., 1983. *General and Comparative Physiology* 3rd ed, Prentice-Hall, N. Jersey. pp. 179-180.
- [4] Keller, R. and E. M. Andrew, 1973. The site of action of the crustaceans hyperglycemic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **20**: 572-578.
- [5] Keller, R. and G. wunderer, 1978. Purification and amino acid composition of the neurosecretory hyperglycemic hormone from the sinus gland of the shore crab, *Carcinus means*. *ibid.*, **34**: 328-335.
- [6] Kleinholz, L. H. et al., 1950. Studies in the regulation of blood-sugar concentration in crustaceans. II. Experimental hyperglycemic and regulatory mechanisms. *Biol. Bull.*, **99**: 454-468
- [7] Kleinholz, L. H., 1975. purified hormones from the crustacean eyestalk and their physiological specificity. *Nature (London)*, **258**: 256-257.
- [8] Kleinholz, L. H., 1976. Crustacean neurosecretory hormones and physiological specificity. *Am. Zool.*, **16**: 151-166.
- [9] Martin, G. et al., 1984. The hyperglycemic Neuropeptide of the Terrestrial Isopod, *Porcellio dilatatus*, I Isolation and Characterization. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **55**: 208-216.
- [10] Martin, G. et al., 1984. The Hyperglycemic Neuropeptide of the Terrestrial Isopod, *Porcellio dilatatus*, II. Immunocytochemical Demonstration in Neurosecretory Structures of the Nervous System. *ibid.*, **55**: 217-226.
- [11] Schmidt-Nielsen, K., 1979. *Animal Physiology: Adaptation and Environment*. 2nd ed., pp. 511-512.
- [12] Sedlmeier, D. and R. Keller, 1981. The mode of action of the crustacean neurosecretory hyperglycemic hormone. I. Involvement of cyclic nucleotides. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **45**(1): 82-90.
- [13] Snell, F. D. and C. T. Snell, 1955. *Colorimetric Methods of Analysis*. 3rd ed., **3**: 195-207,
- [14] van der Kloot, W., 1973. The Effects of the 'Calcium-Antagonist', Prenylamine, on the Action Potential of Crayfish Muscle (*Oreconectes virilis*). *Experientia*, **29**(8): 975-976.
- [15] Wicks, W. D., 1968. Tyrosine- α -Ketoglutarate Transaminase: Induction by Epinephrine and Adenosine-3', 5'-Cyclic Phosphate. *Science*, **163**: 997-998.